

# México, las células troncales y la clonación

Héctor Mayani<sup>a\*</sup> y Rubén Lisker<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Hematopoyesis y Células Troncales, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, México D.F., México

<sup>b</sup>Dirección de Investigación, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México D.F., México

## Las células troncales

La presencia de células primitivas e indiferenciadas, capaces de originar las células maduras de los diferentes tejidos, fue sugerida, con base en estudios morfológicos, a principios del siglo XX. Sin embargo, fue hasta principios de la década de los 60s que se demostró su existencia a través de estudios funcionales. Hoy en día, las células troncales (CT; *stem cells*, en inglés) se han convertido en foco de atención tanto en el área biológica, como en la médica y su estudio es noticia de primera plana en todo el mundo.<sup>1</sup> Pero, ¿qué son las células troncales?, ¿por qué es importante estudiarlas?, ¿cuál es su relevancia clínica? y, sobre todo, ¿qué se ha hecho en México con respecto a ellas?

Las CT han sido definidas como células indiferenciadas con dos características biológicas fundamentales. Por un lado, son capaces de autorreplicarse, es decir que, al dividirse, dan origen a células "idénticas" a ellas mismas; por otro lado, son capaces de producir células maduras funcionales que constituyen a los distintos tejidos del cuerpo.<sup>2</sup> Diferentes tipos de CT son producidas durante el desarrollo. El cigoto es una CT *totipotencial* ya que es capaz de generar al embrión, así como a los tejidos extraembrionarios como lo son la placenta y el cordón umbilical. Durante el estadio de blastocisto (5 a 6 días después de la fecundación), las células de la masa celular interna, también conocidas como CT embrionarias (CTE), corresponden a CT *pluripotenciales*, ya que tienen el potencial de desarrollar prácticamente a cualquier tejido embrionario (pero no a los tejidos extraembrionarios). A partir de las CTE se generan dos tipos de CT: las CT de la línea germinal y las CT somáticas (CTS). Las primeras darán eventualmente origen a los gametos; por su parte, las CTS dan lugar a los distintos tejidos especializados. Cada una de las CTS puede ser *mono* o *multipotencial*, dependiendo de la capacidad que tenga para generar uno o varios tipos de células maduras.<sup>2</sup> Así pues, se sabe que existen CT hematopoyéticas, musculares, mesenquimales, endoteliales, epiteliales y neuronales, entre otras.

Con base en diversas evidencias experimentales, principalmente en modelos animales, ha surgido, en años recientes, el concepto de la *plasticidad* celular.<sup>3</sup> Dicho concepto

sugiere que el potencial de diferenciación de las CTS, o por lo menos de algunas de ellas, no está restringido al tejido al que pertenecen, sino que pueden producir células de otros tejidos. Por ejemplo, existen evidencias de que CT hematopoyéticas pueden generar células neuronales,<sup>4</sup> así como se puede generar células sanguíneas a partir de CT del sistema nervioso central.<sup>5</sup>

Este hallazgo ha abierto las puertas para el desarrollo de estrategias terapéuticas encaminadas al tratamiento de padecimientos cardiovasculares o del sistema nervioso a partir de células de la médula ósea, de la sangre periférica o del cordón umbilical.<sup>6,7</sup> De hecho, cada vez hay más reportes, tanto en revistas científicas especializadas como en los medios de información general (radio, TV y prensa), acerca de este tipo de estudios que se llevan a cabo en varias partes del mundo.

Sin embargo, es importante recalcar dos puntos. El primero es que no se sabe exactamente de que manera las CTS de un tejido son capaces de generar células de otros tejidos, proceso que se conoce como *transdiferenciación*; incluso, hay una gran controversia sobre los posibles mecanismos involucrados. El segundo es que el potencial de transdiferenciación de las CTS, a pesar de la plasticidad que han mostrado, es inferior al potencial de las CTE. Lo anterior ha sido demostrado en modelos animales tanto *in vitro* como *in vivo*.

## Investigación en México sobre CT

Esta explosión del interés por las CT ha llegado a nuestro país con gran fuerza. En muchos lugares, ya sea en la sala de espera de un consultorio particular, en el microbús, en un restaurante o en la fila de un banco, se oye hablar de las "células madre", de los bancos de células de la sangre del cordón umbilical o de la clonación. Es evidente que las CT han provocado gran expectación en nuestra comunidad científica. Ahora hay más investigadores interesados en estudiar estas células que hace unos cuantos años, lo cual es, sin lugar a dudas, muy bueno.

Sin embargo, al contrario de lo que muchos pudieran pensar, en México no somos novatos en el estudio de las CT.

\* Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dr. Héctor Mayani. UIM Enfermedades Oncológicas, Hospital de Oncología, CMN Siglo XXI, IMSS. Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, Deleg. Cuauhtémoc, 06720 México D.F., México. Tel.: (52 55) 5627 6900 ext. 21959, Fax: 5761 0952. Correo electrónico: hmayaniv@prodigy.net.mx

Se empezó a trabajar en esta área de la investigación biomédica hace varios años con la participación de diversos grupos. En este sentido, los grupos probablemente con mayor trayectoria son los de los doctores Luis Covarrubias en el Instituto de Biotecnología de la UNAM y Héctor Mayani en el Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS.

El doctor Covarrubias ha dedicado cerca de 15 años de su ejercicio profesional al estudio de las CT neuronales, empleando modelos experimentales animales en ratón. Sus primeros estudios, publicados en 1995,<sup>8</sup> coincidieron con la demostración de la existencia de células troncales neuronales en el cerebro adulto. Al mismo tiempo, este grupo comenzó a trabajar en la biología de las CTE de ratón, particularmente en los mecanismos que regulan la muerte celular programada (apoptosis). Su investigación se ha enfocado también en la búsqueda de sistemas experimentales para obtener neuronas a partir de CTE.<sup>9</sup> Otra de sus áreas de trabajo actual, es la plasticidad de diferenciación de las CT neuronales, ya sea por efecto del microambiente local o por una reprogramación inducida.

Por otra parte, el doctor Mayani ha trabajado por más de 20 años en el campo de las CT hematopoyéticas humanas de la médula ósea y de la sangre de cordón umbilical, estudiando su proliferación, expansión y diferenciación. Él y el doctor Peter Lansdorp, en Vancouver, Canadá, fueron los primeros en demostrar que las CT hematopoyéticas de la sangre de cordón umbilical poseen potenciales de proliferación y expansión *in vitro* superiores a los de las células de adulto.<sup>10</sup> Actualmente, en el IMSS, su grupo de investigación continúa trabajando en la caracterización de la biología de las CT hematopoyéticas,<sup>11</sup> así como en los mecanismos que llevan a la transformación neoplásica y que conducen a patologías como las leucemias.<sup>12</sup> Desde hace 6 años, este grupo también ha trabajado en la caracterización de CT mesenquimales.<sup>13</sup>

Es importante señalar que, hace varios años, el grupo del doctor Rene Drucker, en el Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, ha estado interesado en el estudio de la neurogénesis y de las células (troncales) que participan en ella. Ha enfocado parte de su investigación a la caracterización de los precursores neurales involucrados en la regeneración de tejido neural, ocurrida como respuesta a cierto tipo de lesiones inducidas en el cerebro de ratas.<sup>14</sup>

Más recientemente, otros grupos han incursionado en esta área. El grupo del doctor Jaime Belkind, en el Instituto Nacional de Salud Pública, ha identificado un tipo de CT presentes en el epitelio intestinal que tiene la capacidad de generar células del sistema nervioso y del músculo liso.<sup>15</sup> Durante su entrenamiento posdoctoral, el doctor Iván Velasco, en el Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, formó parte del grupo de investigación que describió por primera vez la generación de células que producen y secretan insulina a partir de CTE.<sup>16</sup> También participó en experimentos claves para demostrar que las neuronas dopamínergicas, producto de la diferenciación de CTE, podían causar la recuperación funcional de ratas con un síndrome parecido a la enfermedad de Parkinson.<sup>17</sup> Actualmente, su grupo continúa trabajando en el estudio de CTE y de CT neuronales de ratón.

Por supuesto, varios grupos se están incorporando a esta área de estudio o lo harán próximamente que, en un futuro cercano, seguramente publicarán sus reportes en revistas especializadas. Hay que destacar que algunas instituciones, como el IMSS y la UNAM, han iniciado megaproyectos encaminados al estudio de las CT hematopoyéticas y neuronales, respectivamente, a fin de crear programas de terapia celular. Además, parece que pronto otras instituciones del Sector Salud iniciarán programas enfocados al estudio de CT de diversos tejidos.

En el aspecto clínico, cabe mencionar que algunos grupos nacionales han comenzado a tratar pacientes con trastornos cardiovasculares, empleando células hematopoyéticas. Tal es el caso del grupo del Hospital de Cardiología del CMN Siglo XXI del IMSS, del grupo del CMN 20 de Noviembre del ISSSTE y del grupo del Instituto Nacional de Cardiología. Como ya se dijo, todavía no se conocen los mecanismos que explican la razón por la cual las células hematopoyéticas tienen la capacidad de ayudar a la regeneración de tejido cardiaco, endotelial o muscular; sin embargo, este procedimiento clínico se ha extendido ampliamente a nivel mundial y México no ha sido la excepción.

Finalmente, es importante destacar que, hasta donde sabemos, no existen investigadores en nuestro país trabajando con CTE humanas, debido a las restricciones establecidas desde el punto de vista ético y legal (ver más adelante). Sin embargo, como ya se ha mencionado, sí existen grupos, como los de los doctores Covarrubias y Velasco, que están trabajando con CTE de ratón.

## Clonación y CTE. Problemas éticos

Estas investigaciones, tanto las que se realizan con CTS como con CTE de ratón, no presentan problemas éticos y, en ello, radica parcialmente la conveniencia de seguir trabajando con ellas. Por otro lado, la investigación con CTE en nuestra especie ha generado una gran controversia. Para ello empezaremos hablando de la clonación.

### Clonación reproductiva

La palabra clona se acuñó en 1903<sup>18</sup> para describir una colonia de organismos derivados de manera asexual de un solo progenitor. Se pueden clonar desde genes hasta organismos complejos y el tema se puso de moda recientemente con la clonación de una oveja llamada Dolly.<sup>19</sup> Esto se logró utilizando, como material genético, el núcleo de una célula de la glándula mamaria de una oveja embarazada que se introdujo en un ovulo enucleado que, después de tenerse unos días en cultivo, se implantó en el útero de ovejas preparadas hormonalmente para sostener un embarazo. El procedimiento fue muy poco eficiente ya que sólo hubo un éxito de 277 intentos (0.36%). A pesar de que ya se han clonado muchos otros mamíferos, la eficiencia es baja y sigue del orden de 1% por lo general.

Lo anterior se refiere a lo que se podría llamar clonación reproductiva. Existe un consenso mundial de que no se debe

realizar, por el momento, en el humano por razones de su baja eficiencia lo que nos conduciría a numerosos problemas prácticos y éticos.<sup>20</sup> En fecha reciente, se planteó que este procedimiento no sólo sería ineficiente en nuestra especie, sino que, además, no habría prácticamente posibilidad de obtener productos totalmente normales.<sup>21</sup>

### *Clonación terapéutica y transferencia nuclear*

Hay otro tipo de clonación que se ha llamado terapéutica, cuyo objetivo es el mismo que el de las investigaciones con CTS, pero con la diferencia que, en el primer paso, se busca obtener CTE, cosa muy controvertida en nuestra especie. El objetivo de obtener CTE sería la búsqueda de su diferenciación en distintos tejidos con el fin de usarlas como trasplantes en el tratamiento de muchas enfermedades tales como la diabetes tipo 1, la enfermedad de Alzheimer y muchas otras.

Como ya mencionamos, la razón del uso de CTE es que su plasticidad es mayor que las CTS y que se pueden obtener básicamente de dos fuentes:

1. de embriones sobrantes en intentos de fertilización asistida que normalmente se descartan después de algún tiempo de almacenamiento y previa autorización de los padres.
2. de embriones construidos específicamente para obtener CTE y que no están programados para producir un nuevo ser.

En México, como en el resto del mundo, existe mucha controversia por el procedimiento, ya que en el proceso de extraer las células troncales del blastocisto, se destruye el embrión lo que, para algunos, es un crimen porque el blastocisto es un ser humano en potencia que se merece respeto especial y protección legal.

En relación al blastocisto, se presentan dos posiciones extremas:

1. la que se señaló en líneas anteriores y,
2. la que dice que no es más que un conjunto de células que no merece ningún trato ni respeto especiales.

Existe una tercera postura,<sup>22</sup> que podría llamarse gradualista, que acepta que el blastocisto constituye un grupo especial de células que se va humanizando con el paso del tiempo (embarazo) para convertirse en ser humano si llega a nacer. Esta visión gradualista parece ser más acorde con la realidad al describir bien lo que hace la sociedad. Un retraso menstrual es visto sin alarma alguna, mientras que el nacimiento de un mortinato, o más aún, el fallecimiento de un niño pequeño son verdaderas tragedias familiares; si se acepta que el cigoto es ya una persona, lo que ocurrió es similar en los tres casos.

Otra manera de plantear el asunto es la siguiente situación hipotética. Estamos de visita en un centro de trabajo donde se encuentran a la vista un recipiente que contiene 100 blastocitos humanos congelados y un bebe dormido en su cesto de mimbre. Se desata un incendio y sólo puedes salvar o al bebe, o al envase con 100 blastocitos. ¿A quien cree que salvaría la mayor parte de la gente?

### *El argumento de la potencialidad*

Independientemente de que las CTE se obtengan de un embrión construido para ese fin o se traten de embriones sobrantes de intentos de fertilización asistida, se argumenta que el genoma es íntegro en ambos casos y por lo tanto también la potencialidad de convertirse en alguien como nosotros. Esto se defiende a pesar de que en ninguno de estos dos casos se pretende implantar el embrión en un útero y por lo tanto no existe posibilidad de que se convierta en recién nacido. Además de lo anterior, pensamos que se perciben de manera distinta los precursores y los productos terminados. Un huevo no es una gallina, una semilla no es un árbol y un blastocisto que no tiene tejidos, órganos o alguna característica que lo identifique como humano, no es igual que una persona. Sabemos que este argumento no resulta convincente para quienes, por motivos religiosos, consideran que desde el cigoto se trata de un ser humano, lo que nos parece corresponder más a posiciones dogmáticas que a posiciones razonadas.

### **Las disposiciones legales en México**

La legalidad del procedimiento está en discusión en el cuerpo legislativo. Para algunos, la suprema corte de justicia ya dictaminó que desde la formación del cigoto se trata de un ser humano, mientras que para otros el mismo dictamen no tiene fuerza legal por haberlo firmado un número insuficiente de miembros de la corte. En las Naciones Unidas, ha habido dos votaciones sobre el particular; la primera fue en 2003 cuando México se opuso a la prohibición total de la clonación terapéutica y se pronunció por una moratoria de dos años. Cambiando al lado más conservador, en 2005, nuestro país votó a favor de la prohibición, lo que por cierto es una especie de recomendación no vinculante.

### **Panorama mundial**

En algunos países como Inglaterra y Suecia, está permitido realizar estudios con células troncales obtenidas de embriones sobrantes de intentos de fertilización asistida debidamente regulados y vigilados. En la Unión Europea, por mucho tiempo, estuvo prohibido trabajar con CTE, pero en fecha muy reciente se ha liberalizado este procedimiento; lo que no se permite es destruir el blastocisto para obtenerlas, pero si se permite trabajar con ellas. En los Estados Unidos, tanto los senadores como los diputados, aprobaron una ley semejante que fue vetada por el Presidente Bush.<sup>23</sup> Lo curioso es que se prohíbe usar fondos federales para este propósito pero no el uso de fondos estatales o privados. Parece y resulta sorprendente que lo que define lo ético o no ético del procedimiento es el origen del financiamiento.

De cualquier forma, se puede afirmar que en los EEUU se han logrado más de 100 líneas de CTE y un número un poco mayor en el conjunto de países de la Unión Europea.<sup>24</sup> Este tipo de líneas celulares también se ha producido en Japón y Corea del Sur así como en Australia e Israel, entre otros países.

Es una de las áreas de investigación más calientes en la actualidad y aún cuando no se tiene a la fecha ninguna aplicación terapéutica, salvo las basadas en CTS para algunas enfermedades hematológicas e inmunológicas, es probable que se logren éxitos importantes en el futuro, sin poder precisar cuándo ocurrirá esto.

## Algunas estrategias alternativas

No queremos terminar sin anunciar que se está trabajando en nuevas alternativas para la generación de CTE, con la idea de que sean aceptables para aquellos grupos que tienen objeciones de carácter ético. Por un lado, se ha logrado producir blastocistos que no tienen la capacidad de implantarse en un útero y que, por lo tanto, no tienen utilidad reproductiva.<sup>25,26</sup> Por otra parte, un grupo de investigadores encabezados por Robert Lanza describió recientemente una metodología mediante la cual se pudo generar una línea celular a partir de CTE de ratón sin que los blastocistos hayan sido destruidos o alterados.<sup>27</sup> También en este año, Zhang y colaboradores acaban de describir la obtención de una línea celular embrionaria humana a partir de blastocistos cuyo desarrollo se encuentra detenido, habiendo dejado de dividirse y por lo tanto, volviéndose naturalmente inviables.<sup>28</sup> Estos logros en sistemas experimentales plantean nuevas posibilidades que se tendrán, eventualmente, que evaluar. Habrá que esperar la opinión de los grupos conservadores sobre la aceptabilidad de estas nuevas alternativas.

## Referencias

1. Vogel G. Breakthrough of the year. Capturing the promise of youth. *Science* 1999;286:2238-2239.
2. Mayani H. A glance into somatic stem cell biology: Basic principles, new concepts and clinical relevance. *Arch Med Res* 2003;34:3-15.
3. Wulf GG, Jackson KA, Goodel MA. Somatic stem cell plasticity: current evidence and emerging concepts. *Exp Hematol* 2001;29:1361-1370.
4. Mezey E, Chandross KJ, Harta G, Maki RA, McKercher SR. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. *Science* 2000;290:1779-1782.
5. Almeida-Porada G, Crapnell K, Porada C, Benoit B, Nakauchi H, Quesenberry P, et al. In vivo haematopoietic potential of human neural stem cells. *Brit J Haematol* 2005;130:276-283.
6. Orlic D. BM stem cells and cardiac repair: where do we stand in 2004? *Cytotherapy* 2005;7:3-15.
7. Garbossa D, Fontanella M, Fronda C, Benevello C, Muraca G, Ducati A, et al. New strategies for repairing the injured spinal cord: the role of stem cells. *Neurol Res* 2006;28:500-504.
8. Santa-Olalla J, Covarrubias L. Epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor-alpha (TGF-alpha), and basic fibroblast growth factor (bFGF) differentially influence neural precursor cells of mouse embryonic mesencephalon. *J Neurosci Res* 1995;42:172-183.
9. Baizabal JM, Furlan-Magaril M, Santa-Olalla J, Covarrubias L. Neural stem cells in development and regenerative medicine. *Arch Med Res* 2003;34:572-588.
10. Lansdorp PM, Dragowska W, Mayani H. Ontogeny-related changes in proliferative potential of human hematopoietic cells. *J Exp Med* 1993;178:787-791.
11. Flores-Guzman P, Flores-Figueroa E, Martínez-Jaramillo G, Mayani H. In vitro characterization of two lineage-negative CD34+ cell-enriched hematopoietic cell populations from human umbilical cord blood. *Cytotherapy* 2005;7:334-344.
12. Chávez-González A, Rosas-Cabral A, Vela-Ojeda J, González JC, Mayani H. Severe functional alterations in vitro in CD34+ cell subpopulations from patients with chronic myeloid leukemia. *Leuk Res* 2004;28:639-647.
13. Flores-Figueroa E, Arana-Trejo RM, Gutiérrez-Espindola G, Pérez-Cabrera A, Mayani H. Mesenchymal stem cells in myelodysplastic syndromes: phenotypic and cytogenetic characterization. *Leuk Res* 2005;29:215-224.
14. Arias-Carrión O, Hernández-López S, Ibáñez-Sandoval O, Bargas J, Hernández-Cruz A, Drucker-Colin R. Neuronal precursors within the adult rat subventricular zone differentiate into dopaminergic neurons after substantia nigra lesion and chromaffin cell transplant. *J Neurosci Res* 2006;84:1425-1437.
15. Suárez-Rodríguez R, Belkind-Gerson J. Cultured nestin-positive cells from postnatal mouse small bowel differentiate ex vivo into neurons, glia and smooth muscle. *Stem Cells* 2004;22:1373-1385.
16. Lumelsky N, Blondel O, Laeng P, Velasco I, Ravin R, McKay R. Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets. *Science* 2001;292:1389-1394.
17. Kim JH, Auerbach J, Rodríguez A, Velasco I, Gavin D, Lumelsky N, et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 2002;418:50-56.
18. Webber H. New horticultural and agricultural terms. *Science* 1903;25:501-503.
19. Wilmut I, Schnieke A, McWhir J, Kind A, Campbell V. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997;385:810-813.
20. Lisker R, Tapia R. Clonación en humanos, Ciencia 1997;48:5-13.
21. Jaenisch R. Human cloning. The science and ethics of nuclear transplantation. *N Eng J Med* 2004;351:2787-2790.
22. Lisker R. Ethical and legal issues in therapeutic cloning and the study of stem cells. *Arch Med Res* 2003;34:607-611.
23. Anónimo. Come veto or high water. *Nature* 2006;442:329.
24. Abbott A, Dennis C, Ledford H, Smith K. A long week in stem cell politics. *Nature* 2006;442:335-337.
25. Solter D. Politically correct human embryos stem cells? *N Eng J Med* 2005;353:2321-2323.
26. Dennis C, Check E. "Ethical" routes to stem cells highlights political divide. *Nature* 2005;437:1076-1077.
27. Klimanskaya I, Chung Y, Becker S, Lu SJ, Lanza, R. Human embryonic stem cell lines derived from single blastomeres. *Nature* 2006;444:481-485.
28. Zhang X, Stojkovic P, Przyborski S, Cooke M, Armstrong L, Lako M, et al. Derivation of human embryonic stem cells from developing and arrested embryos. *Stem Cells* 2006;24:2669-2676.